

厚生労働行政推進調査事業費補助金
(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)
(分担) 研究年度終了報告書

各種ウイルスに対する不活化効果検証法の確立に関する研究

研究分担者 早坂大輔 国立大学法人山口大学共同獣医学部・教授

研究要旨

本研究では、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) に対する 265nm 深紫外 LED ランプ、石鹼、漆喰シート、各種弱酸 (酢酸、クエン酸、シュウ酸) による不活化効果の検証を行った。その結果、LED ランプを用いた 265nm 深紫外照射は 254nm 水銀ランプと同程度の不活化効果を示すこと、市販石鹼は 1%濃度 1 分後でも不活化効果がみられること、漆喰成分を含むシート製品に接触 10 分間で検出限界以下まで不活化効果がみられること、pH2 および pH4 の酢酸水溶液および pH2 のクエン酸水溶液で検出限界以下まで不活化効果がみられることが示され、それぞれの条件による不活化条件が示された。

A. 研究目的

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) をはじめとする数種の病原性ウイルスについて、「感染症法に基づく消毒・滅菌の手引き」に収載されていない消毒・滅菌方法の追加に必要な情報を得ることを目的とし、新型コロナウイルスに対する不活化効果検証法の確立と条件に応じた不活化効果検証を行った。

B. 研究方法

1. 新型コロナウイルスに対する紫外線の不活化効果検証

SARS-CoV-2(2019-nCoV/Japan/AI/I-004/2020)ウイルス液 10ml を準備し、LED ランプ (265nm、280nm) および紫外線水銀ランプ (254nm) を用いて、紫外線を一定時間間隔で照射後、VeroE6/TMPRSS2 細胞を用いたプラーク法によりウイルスタイトを測定した。

2. 新型コロナウイルスに対する石鹼の不活化効果検証

濃度を段階的に希釈した市販石鹼サンプル (牛乳石鹼社製ミルキイボディソープ) と SARS-CoV-2 ウイルス液を 9:1 の割合で混合し、1 分後にサンプル中のウイルスタイトをプラーク法により測定した。

3. 新型コロナウイルスに対する漆喰シート製品の不活化効果検証

漆喰成分を含むシート製品 (株式会社トクヤマ製品) の 1cm 径試験片に、新型コロナウイルスのウイルス液 50 μ l を 10 分間接触後、ウイルスタイトをプラーク法より測定した。

4. 新型コロナウイルスに対する酸の不活化効果検証

酢酸、クエン酸、シュウ酸を、水酸化ナトリウムを用いて pH2、pH4、pH6 に調整し、新型コロナウイルスのウイルス液と 9:1 の割合で混

合し、1 分後のウイルスタイターをブランク法により測定した。なお、各種酸水溶液とウイルス液となる細胞培養液との混合により pH に変化がないことは確認している。

(倫理面への配慮)

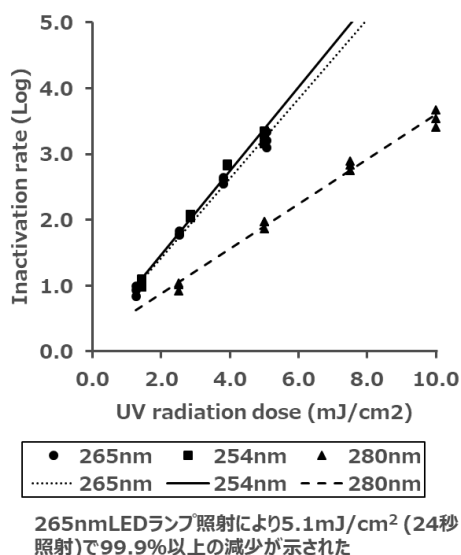
特記事項なし

C. 研究結果

1. 新型コロナウイルスに対する紫外線の不活化効果検証

265nmLED ランプ照射は 5.1mJ/cm² (24 秒照射) で 99.9%以上の減少を示し、254nm 水銀ランプ照射と同程度の不活化効果を示した。また、265nmLED ランプ照射においても、7.5mJ/cm² (45 秒照射) で 99.8%以上の減少が示され、265nm および 280nm ランプによる不活化効果が確認された (図 1)。

図 1 紫外線照射後のウイルスタイター減少度

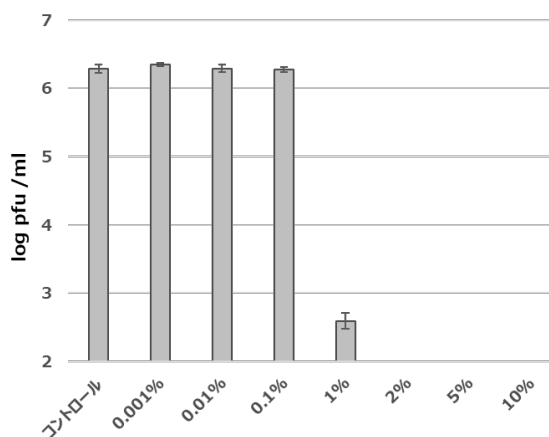


2. 新型コロナウイルスに対する市販石鹼の不活化効果検証

培養細胞に対する石鹼液の細胞毒性のため、高い濃度だと検出限界高くなってしまいが、

1%希釈石鹼以上の濃度で、99.97%以上の不活化効果が示され、石鹼液による新型コロナウイルスに対する不活化効果が確認された (図 2)。

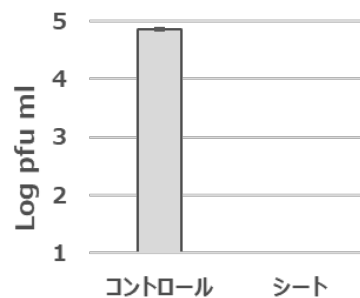
図 2 石鹼液混合後のウイルスタイター



3. 新型コロナウイルスに対する漆喰シート製品の不活化効果検証

コントロールに比較し、シート接触後ではウイルスタイターが検出限界以下となり、99.98%以上の減少が確認された (図 3)。

図 3 漆喰シート接触後のウイルスタイター

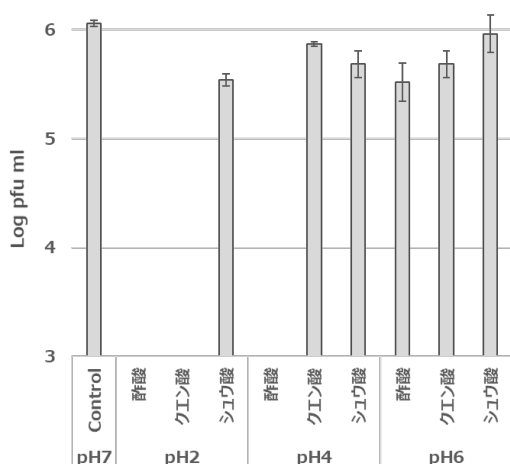


4. 新型コロナウイルスに対する酸の不活化効果検証

pH2 において、酢酸、クエン酸では検出限界以下まで不活化がみられたが、シュウ酸で

はウイルスタイターの顕著な減少がみられなかった。pH4では、酢酸の不活化効果がみられたが、クエン酸、シュウ酸ではみられなかった。一方、pH6では、いずれの酸も不活化効果が確認されなかった（図4）。

図4 各酸との混合後のウイルスタイター



D. 考察

紫外線によるウイルス不活化は有効な手段だが、一般的に用いられる水銀ランプは、水銀を用いることから環境への影響の懸念がある。そこで水銀を使用しないLEDランプの有用性が注目されている。本研究により波長265nm深紫外LEDが、254nm水銀ランプと同程度の不活化効果が示されたことで、安全キャビネットや紫外線滅菌装置等におけるLEDランプ利用の根拠となる情報提供となった。今後、より実生活に近い状況での検証として、唾液、体液等中のウイルスに対する効果、空間中のウイルスに対する効果、人体への害が少ないUV-A等のより波長の長い紫外線の効果、新型コロナウイルス以外のウイルスに対する効果などの検証が有用と考えられた。

石鹼の検証において、実際の手洗い等では洗い流す効果が大きいですが、家庭等で一般的に使用される石鹼の新型コロナウイルスに対する不活化効果が実験的に示されたことから、同様の製品を含む石鹼の利用による有効性を示す情報提供となった。今後は、泡状にした時の効果、唾液、体液等中のウイルスに対する効果などの検証が有用と考えられる。

シート状製品のウイルス不活化効果検証には、抗菌性試験(ISO22196)をウイルスに置き換えた評価試験(ISO21702)が知られている。しかしながら、抗菌性とウイルス不活化では意味が大きく異なるため、本研究による漆喰シートの検証においては、より実生活に近い状況を想定した上で、ISO21702にくらべ、少ないウイルス量、数分間の接触、自然乾燥も含む条件等を含めた方法を用いて検証を行い、漆喰シートのウイルス不活化に対する有効性を示した。したがって、ISO21702の方法に限らないシート状の抗ウイルス効果検証の方法も示した情報提供となった。

弱酸(酢酸、クエン酸、シュウ酸)を用いたウイルス不活化検証の結果、酸の種類とpHに依存した新型コロナウイルスに対する不活化効果が確認された。しかしながら、興味深いことに、同じpHでも酸の種類により効果が違うことが確認され、酢酸では効果が期待できるが、シュウ酸では効果が期待できないことが示唆された。酸による効果の違いは、単にpHではなく、エンベロープを構成する脂質への浸透性やウイルスの構造タンパク質への変性効果に違いがあることが示唆され、今後の解析が有用と考えられた。

E. 結論

本研究により、新型コロナウイルスに対する 265nm 深紫外 LED による不活化効果、市販石鹼による不活化効果、漆喰シート製品による不活化効果、酢酸、クエン酸による不活化効果が確認され、新型コロナウイルスの不活化法に関する新たな知見が得られた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Shimoda H, Matsuda J, Iwasaki T, Hayasaka D*. Efficacy of 265-nm ultraviolet light in inactivating infectious SARS-CoV-2. Journal of Photochem Photobiol. 2021, 7, 100050.

2. 学会発表

該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし